

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
3. Oktober 2002 (03.10.2002)

PCT

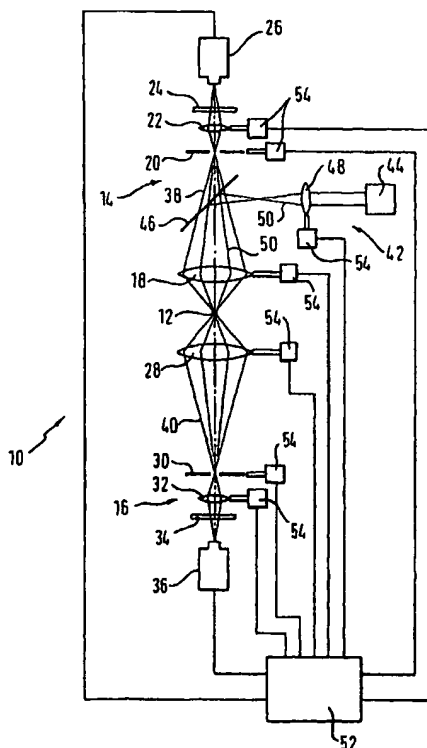
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/077694 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: G02B 21/00, 21/24, G01J 3/44, 3/02, G01N 21/64
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): GNOTHIS HOLDING S.A. [CH/CH]; CH-1015 Ecublens (CH).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/03453
- (72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): RIGLER, Rudolf [AT/CH]; Rue du Centre 115, CH-1025 St-Sulpice (CH).
EDMAN, Lars [SE/SE]; Rålambsvägen 54, S-112 56 Stockholm (SE).
- (22) Internationales Anmeldedatum: 27. März 2002 (27.03.2002)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 101 15 309.0 28. März 2001 (28.03.2001) DE
- (74) Anwalt: WEICKMANN & WEICKMANN; Postfach 860 820, 81635 München (DE).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: MICROSCOPE ARRAY FOR FLUORESCENCE SPECTROSCOPY, ESPECIALLY FLUORESCENCE CORRELATION SPECTROSCOPY

(54) Bezeichnung: MIKROSKOPANORDNUNG ZUR FLUORESCENZSPEKTROSKOPIE, INSBESONDERE FLUORESCENZKORRELATIONSSPEKTROSKOPIE



(57) Abstract: The invention relates to a microscope array for fluorescence spectroscopy, especially fluorescence correlation spectroscopy, comprising at least two beam paths (38, 40, 50) which can be focused on a volume of a sample (12) that is to be measured that is placed in a common measuring area of the microscope array. At least one (5) of the beam paths (38, 40, 50) is an illumination beam path that leads from a light source (44) to the measuring area. At least another (38, 40) beam path (38, 40, 50) is an observation beam path that leads from the measuring area to a photodetector (26, 36) supplying a fluorescence detection signal. The microscope array has at least one optical element (18, 20, 22, 28, 30, 48) arranged in one of the beam paths (38, 40, 50). Said optical element can be displaced for focal adjustment of this beam (38, 40, 50). According to the invention, an electronic adjustment and control device (52) is provided, which responds to the fluorescence detection signal and is adjustably connected to the optical element (18, 20, 22, 28, 30, 48) depending on the fluorescence detection signal with the purpose of performing focal adjustment of the corresponding beam path, thereby making it possible to adjust the microscope array in a highly precise manner.

(57) Zusammenfassung: Es wird eine Mikroskopanordnung zur Fluoreszenzspektroskopie, insbesondere Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie vorgeschlagen, mit mindestens zwei Strahlengängen (38, 40, 50), welche jeweils auf ein in einem gemeinsamen Messbereich der Mikroskopanordnung liegendes Messvolumen einer zu untersuchenden Messprobe (12) fokussierbar sind. Mindestens einer (50) der Strahlengänge (38, 40, 50) ist dabei ein Beleuchtungsstrahlengang, welcher von einer Lichtquelle (44) zu dem Messbereich führt. Mindestens ein weiterer (38, 40) der Strahlengänge (38, 40, 50) ist ferner ein Beobachtungsstrahlengang, welcher

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



(81) **Bestimmungsstaaten (national):** AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— *Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US*

Veröffentlicht:

— *mit internationalem Recherchenbericht*
— *vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen*

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

von dem Messbereich zu einem ein Fluoreszenzdetektionssignal bereitstellenden Photodetektor (26, 36) führt. Die Mikroskopanordnung weist mindestens ein in einem der Strahlengänge (38, 40, 50) angeordnetes optisches Element (18, 20, 22, 28, 30, 48) auf, welches zur Fokaleinstellung dieses Strahlengangs (38, 40, 50) verstellbar ist. Erfindungsgemäss ist eine auf das Fluoreszenzdetektionssignal ansprechende und mit dem optischen Element (18, 20, 22, 28, 30, 48) in Stellverbinding stehende elektronische Stell-Steuereinrichtung (52) vorgesehen, welche dazu ausgebildet ist, zur Fokaleinstellung des betreffenden Strahlengangs (38, 40, 50) eine von dem Fluoreszenzdetektionssignal abhängige Verstellung des optischen Elements (18, 20, 22, 28, 30, 48) zu bewirken. Auf diese Weise ist eine hochpräzise fokale Justierung der Mikroskopanordnung möglich.

Mikroskopanordnung zur Fluoreszenzspektroskopie, insbesondere
Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie

- 5 Die Erfindung betrifft eine Mikroskopanordnung zur Fluoreszenzspektroskopie, insbesondere Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie.

Fluoreszenzspektroskopie ist ein Verfahren, das den Nachweis bestimmter Analyten in einer Messprobe ermöglicht. Bei der Messprobe kann es sich
10 um eine beliebige Flüssigkeitsprobe handeln; in der Regel ist dies eine biologische Probe, z.B. eine Körperflüssigkeit, wie Blut, Serum Plasma, Urin, Speichel etc. oder ein molekularbiologischer Reaktionsansatz, z.B. ein Sequenzierungsansatz. Bei den Analyten kann es sich um niedermolekulare Substanzen, wie Arzneimittel, Hormone, Nukleotide, Metaboliten etc., oder
15 hochmolekulare Substanzen, wie Proteine, Zucker, Nukleinsäuren etc., Viren oder Zellen wie Bakterienzellen handeln. Um die gesuchten Analyten identifizieren zu können, werden sie mit fluorophortragenden Reagenzien markiert, die bei Licht-, insbesondere Laserbestrahlung Fluoreszenzsignale aussenden, welche detektiert und ausgewertet werden. In der Fluoreszenz-
20 korrelationsspektroskopie werden hierbei Auto-oder/und Kreuzkorrelationen der detektierten Fluoreszenzsignale ausgewertet. Nähere Informationen zur Fluoreszenzspektroskopie und insbesondere zur Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie können beispielsweise der EP 0 679 251 B1 sowie einem Artikel „Sorting single molecules: Application to diagnostics and evolutionary biotechnology“ von M. Eigen und R. Rigler, erschienen in Band 91 von
25 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Seiten 5740 bis 5747, Juni 1994, entnommen werden.

Zu fluoreszenzspektroskopischen Untersuchungen werden Mikroskope
30 verwendet, die wünschenswerterweise auf ein sehr kleines Teilvolumen der Probe – das Messvolumen – fokussierbar sein sollen. Ein sehr kleines Messvolumen, beispielsweise im Femtoliterbereich, wird angestrebt, damit

- 2 -

die fluoreszierenden Moleküle nicht durch zu intensive und lange Licht-
bestrahlung ausbleichen und die Messungen verfälschen. Bei derart kleinen
Messvolumina ist eine exakt konfokale Einstellung des verwendeten Mikro-
skops von großer Bedeutung, um hinreichend hohe Signal-Rausch-Ab-
stände sicherzustellen. Konfokalität heißt dabei, dass Beleuchtungsfokus
5 und Beobachtungsfokus des Mikroskops exakt zusammenfallen. Dies zu
erreichen ist jedoch schwierig, weil eben aufgrund der winzigen Größe des
Messvolumens bereits geringste Fehleinstellungen zur Afokalität zwischen
Beleuchtungsfokus und Beobachtungsfokus führen können. Die Sache wird
10 noch komplizierter, wenn das Mikroskop mit mehreren Detektoren ausge-
führt ist und der Beobachtungsfokus jedes dieser Detektoren exakt mit dem
Messvolumen zusammenfallen soll.

Aufgabe der Erfindung ist es, bei einem Mikroskop für die Fluoreszenzspek-
15 troskopie eine exakte Fokaleinstellung zu ermöglichen.

Bei der Lösung dieser Aufgabe geht die Erfindung aus von einer Mikroskop-
anordnung zur Fluoreszenzspektroskopie, insbesondere Fluoreszenzkorrela-
tionsspektroskopie, mit mindestens zwei Strahlengängen, welche jeweils
20 auf ein in einem gemeinsamen Messbereich der Mikroskopanordnung
liegendes Messvolumen einer zu untersuchenden Messprobe fokussierbar
sind, wobei mindestens einer der Strahlengänge ein Beleuchtungsstrahlen-
gang ist, welcher von einer Lichtquelle zu dem Messbereich führt, wobei
mindestens ein weiterer der Strahlengänge ein Beobachtungsstrahlengang
25 ist, welcher von dem Messbereich zu einem ein Fluoreszenzdetektions-
signal bereitstellenden Photodetektor führt, und wobei die Mikroskopanord-
nung mindestens ein in einem der Strahlengänge angeordnetes optisches
Element aufweist, welches zur Fokaleinstellung dieses Strahlengangs
verstellbar ist.

30

Erfindungsgemäß umfasst die Mikroskopanordnung dabei eine auf das
Fluoreszenzdetektionssignal ansprechende und mit dem optischen Element

- 3 -

in Stellverbindung stehende elektronische Stell-Steuereinrichtung, welche dazu ausgebildet ist, zur Fokaleinstellung des betreffenden Strahlengangs eine von dem Fluoreszenzdetektionssignal abhängige Verstellung des optischen Elements zu bewirken.

5

Bei der erfindungsgemäßen Lösung dient das Fluoreszenzdetektionssignal als Rückkopplungsgröße, anhand derer die Stell-Steuereinrichtung einen etwaigen Stellbedarf für das optische Element ermittelt. Es hat sich gezeigt, dass unter Heranziehung des Fluoreszenzdetektionssignals eine hochge-
10 naue Fokaleinstellung jedes Strahlengangs der Mikroskopanordnung erzielbar ist.

Das optische Element kann beliebiger Art sein, solange seine räumliche Position die Lage des objektseitigen Fokus des betreffenden Strahlengangs beeinflusst, beispielsweise eine Linse, eine Blende oder ein Spiegel. Als
15 verstellbares optisches Element kann im Fall eines Beleuchtungsstrahlengangs auch unmittelbar die Lichtquelle oder im Fall eines Beobachtungsstrahlengangs der die angeregten Lichtimpulse detektierende Photodetektor dienen. In jedem Strahlengang kann nicht nur ein einziges optisches Ele-
20 ment verstellbar sein, sondern es können zwei oder mehr optische Elemente vorgesehen sein, die unabhängig voneinander zur Fokaleinstellung des betreffenden Strahlengangs verstellbar sind.

Bei einer bevorzugten Weiterbildung der Erfindung ist die Stell-Steuereinrichtung dazu ausgebildet, zur Fokaleinstellung des betreffenden Strahlen-
25 gangs eine Verstellung des optischen Elements in Abhängigkeit eines von dem Fluoreszenzdetektionssignal abgeleiteten Korrelationssignals zu bewirken. Dabei kann zur Fokaleinstellung eines Beleuchtungsstrahlengangs und eines Beobachtungsstrahlengangs relativ zueinander die Stell-Steuereinrichtung dazu ausgebildet sein, eine Verstellung mindestens eines in dem
30 Beleuchtungsstrahlengang angeordneten optischen Elements oder/und eine Verstellung mindestens eines in dem Beobachtungsstrahlengang angeord-

- 4 -

neten optischen Elements in Abhängigkeit eines Autokorrelationssignals zu bewirken, welches durch Autokorrelation des Fluoreszenzdetektionssignals des in dem Beobachtungsstrahlengang angeordneten Photodetektors hergeleitet ist. Sollen dagegen ein erster und ein zweiter Beobachtungsstrahlengang relativ zueinander fokal eingestellt werden, so kann die Stell-Steuer-
einrichtung dazu ausgebildet sein, eine Verstellung mindestens eines in dem ersten Beobachtungsstrahlengang angeordneten optischen Elements oder/und eine Verstellung mindestens eines in dem zweiten Beobachtungsstrahlengang angeordneten optischen Elements in Abhängigkeit eines Kreuzkorrelationssignals zu bewirken, welches durch Kreuzkorrelation der Fluoreszenzdetektionssignale der in den beiden Beobachtungsstrahlengängen angeordneten Photodetektoren hergeleitet ist.

Nachfolgend werden einige Ausführungsbeispiele der erfindungsgemäßen Mikroskopianordnung anhand der beigefügten Zeichnungen näher erläutert. Darin stellen dar:

Fig. 1 schematisch ein erstes Ausführungsbeispiel der Mikroskopianordnung,

Fig. 2 schematisch ein zweites Ausführungsbeispiel der Mikroskopianordnung,

Fig. 3 schematisch ein drittes Ausführungsbeispiel der Mikroskopianordnung und

Fig. 4 schematisch ein viertes Ausführungsbeispiel der Mikroskopianordnung.

Die in Fig. 1 gezeigte Mikroskopianordnung ist als Doppelmikroskop ausgeführt, welches zur fluoreszenzspektroskopischen Untersuchung einer bei 12 angeordneten, jedoch im Detail nicht näher dargestellten Messprobe,

- 5 -

beispielsweise einer Blutprobe, auf das Vorhandensein bestimmter Analyten, etwa krankheitserregender Viren oder DNA-Stränge, dient. Die Bezeichnung Doppelmikroskop bezieht sich auf eine Ausgestaltung der Mikroskopanordnung mit zwei einander bezogen auf die Messprobe 12 gegenüberliegend angeordneten optischen Beobachtungsbaugruppen 14, 16, die von zwei verschiedenen Seiten her eine Beobachtung der Messprobe 12 erlauben. Die Beobachtungsbaugruppe 14 weist eine Objektivlinse 18, eine Lochblende 20 sowie ggf. weitere optische Elemente (Linsen, Filter, Blenden oder dergl.) auf, die in ihrer Gesamtheit dazu dienen, ein als Messvolumen bezeichnetes kleines Teilvolumen der Messprobe 12 auf einen Photodetektor 26 abzubilden. Im vorliegenden Beispielfall der Fig. 1 umfassen diese weiteren optischen Elemente eine Linse 22 und ein Filter 24. Der Abstand der Objektivlinse 18 von der Messprobe 12 kann weniger als 1 mm betragen; er kann aber auch größer als 1 mm sein. Eine diesbezügliche Abstandsbeschränkung besteht nicht. Die vorzugsweise baugleich ausgeführte Beobachtungsbaugruppe 16 weist in entsprechender Weise eine Objektivlinse 28, eine Lochblende 30 sowie ggf. weitere optische Elemente (hier eine Linse 32 sowie ein Filter 34) auf, die das Messvolumen auf einen Photodetektor 36 abbilden. Jede der Beobachtungsbaugruppen 14, 16 definiert einen vom Messvolumen zum jeweiligen Detektor 26 bzw. 36 verlaufenden Beobachtungsstrahlengang, der in Fig. 1 mit 38 bzw. 40 bezeichnet ist.

Das Doppelmikroskop 10 umfasst ferner eine Beleuchtungsbaugruppe 42, die dazu dient, einen auf das Messvolumen gerichteten Beleuchtungsstrahl bereitzustellen. Sie umfasst eine Laserquelle 44, einen in einem der Beobachtungsstrahlengänge 38, 40 (hier im Beobachtungsstrahlengang 38) angeordneten halbdurchlässigen (dichroitischen) Spiegel 46, mittels dessen der von der Laserquelle 44 ausgesandte Laserstrahl in Richtung auf das Messvolumen umgelenkt wird, und ggf. weitere optische Elemente zur Beeinflussung des Laserstrahls. Diese weiteren optischen Elemente umfassen im vorliegenden Beispielfall zumindest eine Linse 48, die der Vor-

- 6 -

fokussierung des Laserstrahls dient. Nach Ablenkung durch den Spiegel 46 trifft der Laserstrahl auf die Objektivlinse 18. Von dort wird er auf das Messvolumen der Messprobe 12 fokussiert. Die Beleuchtungsbaugruppe 42 definiert so - zusammen mit der Objektivlinse 18 - einen von der Laser-
5 quelle 44 zu dem Messvolumen führenden Beleuchtungsstrahlengang des Doppelmikroskops 10. Dieser Beleuchtungsstrahlengang ist in Fig. 1 mit 50 bezeichnet.

Der auf das Messvolumen treffende Laserstrahl regt darin befindliche (freie
10 oder an die gesuchten Analyten gebundene) Fluorophore zu Fluoreszenz an. Dabei werden Lichtimpulse erzeugt, die von den Detektoren 26, 36 registriert werden. Die Detektoren 26, 36 können auf gleiche oder auf unterschiedliche Fluoreszenzwellenlängen ansprechen. Eine mit den Detektoren 26, 36 verbundene elektronische Auswerte- und Steuereinheit 52 wertet
15 die von den Detektoren gelieferten Fluoreszenzdetektionssignale aus. Der Nachweis der gesuchten Analyten geschieht dabei bevorzugt über Auto- oder/und Kreuzkorrelationen der Fluoreszenzdetektionssignale.

Mikroskopianordnungen, bei denen das im Fokus eines Laserstrahls liegende
20 Messvolumen zugleich exakt auf einen Detektor abgebildet wird, werden üblicherweise konfokal genannt. Konfokale Mikroskopianordnungen sind in der Fachwelt bekannt. Beispielhaft wird auf die EP O 679 251 B1 verwiesen, der Konstruktionsdetails zu einem konfokalen Doppelmikroskop entnommen werden können.

25 Um bei dem Doppelmikroskop 10 der Fig. 1 exakte Konfokalität zu erzielen, muss der Beleuchtungsfokus, also der Fokus des Laserstrahls, exakt mit dem Beobachtungsfokus jedes der Beobachtungsstrahlengänge 38, 40 zusammenfallen. Zugleich sollen die Foki der beiden Beobachtungsstrahlengänge 38, 40 exakt deckungsgleich sein, damit nicht verschiedene Teilvo-
30 lumina der Messprobe 12 von den beiden Detektoren 26, 36 beobachtet werden. Die Auswerte- und Steuereinheit 52 ist dazu ausgebildet, die

- 7 -

- Fokaleinstellung jedes Beobachtungs- und Beleuchtungsstrahlengangs automatisiert im Sinne vorstehender Kriterien vorzunehmen, und zwar in Abhängigkeit der von den Detektoren 26, 36 gelieferten Fluoreszenzdetektionssignale. Die Fokaleinstellung der Strahlengänge 38, 40, 50 erfolgt
5 beispielsweise derart, dass zunächst der Beleuchtungsstrahlengang 50 und der Beobachtungsstrahlengang 38 fokal aufeinander abgestimmt werden und anschließend der Fokus des Beobachtungsstrahlengangs 40 deckungsgleich mit dem Fokus des Beobachtungsstrahlengangs 38 gemacht wird.
- 10 In jedem der Strahlengänge 38, 40, 50 ist zur Fokaleinstellung des betreffenden Strahlengangs mindestens eine optische Komponente mittels eines von der Auswerte- und Steuereinheit 52 gesteuerten Stellorgans 54 in mindestens einer Raumrichtung, gewünschtenfalls aber auch in zwei oder sogar drei zueinander orthogonalen Raumrichtungen verstellbar. Diese
15 Komponente kann unabhängig von den anderen optischen Komponenten des betreffenden Strahlengangs verstellbar sein. Es ist aber auch denkbar, dass mindestens ein Teil der übrigen optischen Komponenten des betreffenden Strahlengangs mit der verstellbaren Komponente bewegungsgekoppelt ist, derart, dass bei einer Verstellung der einen Komponente auch
20 dieser Teil der übrigen Komponenten eine Verstellung erfährt. Insbesondere können in einem Strahlengang zwei oder mehr jeweils mittels eines Stellorgans 54 unabhängig voneinander verstellbare optische Komponenten angeordnet sein. In Fig. 1 können, was den Beobachtungsstrahlengang 38
anbelangt, beispielhaft die Objektivlinse 18 und die Lochblende 20 mittels
25 je eines Stellorgans 54 unabhängig voneinander verstellbar sein. Es ist leicht nachvollziehbar, dass durch Verstellung jeder dieser beiden Komponenten die räumliche Lage des vom Detektor 26 aus gesehenen objektseitigen Fokus des Beobachtungsstrahlengangs 38 beeinflusst werden kann. Die Objektivlinse 18 liegt zudem im Beleuchtungsstrahlengang 50;
30 eine Verstellung der Objektivlinse 18 würde daher neben dem Fokus des Beobachtungsstrahlengangs 38 gleichzeitig auch den Fokus des Beleuchtungsstrahlengangs 50 beeinflussen. Um den Fokus des Beleuchtungs-

- 8 -

strahlengangs 50 unabhängig von dem Fokus des Beobachtungsstrahlengangs 38 einstellen zu können, ist ferner mindestens eine ausschließlich den Beleuchtungsstrahlengang 50 fokal beeinflussende optische Komponente mittels eines Stellorgangs 54 unabhängig von der Objektivlinse 18
5 verstellbar. Im Fall der Fig. 1 ist dies die Vorfokussierungslinse 48. Diese ist vorzugsweise längs des Beleuchtungsstrahlengangs 50 und auch quer zu diesem (also in Fig. 1 nach oben und unten) justierbar.

Es ist zu beachten, dass Fig. 1 lediglich Beispiele für verstellbare Komponenten zeigt. Grundsätzlich können zur Fokaleinstellung beliebige optische Komponenten eines Strahlengangs unabhängig oder in Abhängigkeit von anderen Komponenten verstellbar sein. Insbesondere ist es vorstellbar, dass die Detektoren 26, 36 oder/und die Laserquelle 44 verstellbar sind. Daneben können selbstverständlich auch die Linsen 22, 32 oder/und der
15 Spiegel 46 verstellbar sein.

Die Auswerte- und Steuereinheit 52 zählt anhand der von den Detektoren gelieferten Signale vorzugsweise die pro Molekül detektierten Ereignisse und steuert im Rahmen der Fokaleinstellung der Strahlengänge 38, 40, 50
20 die Stellorgane 54 vorzugsweise in Abhängigkeit von Korrelationssignalen, welche sie aus den Detektorsignalen ermittelt. Zur fokalen Indeckungbringung des Beleuchtungsstrahlengangs 50 und des Beobachtungsstrahlengangs 38 ermittelt sie aus dem vom Detektor 26 gelieferten Fluoreszenzdetektionssignal insbesondere ein Autokorrelationssignal erster oder/und
25 höherer Ordnung. Abhängig von dem Autokorrelationssignal bewirkt die Auswerte- und Steuereinheit 52 dann durch geeignete Ansteuerung der Stellorgane 54 eine Verstellung wenigstens eines Teils der verstellbaren optischen Komponenten des Beobachtungsstrahlengangs 38 oder/und des Beleuchtungsstrahlengangs 50. Dies geschieht vorzugsweise in Abhängig-
30 keit von der Amplitude und der Halbwertszeit der Korrelation. Wenn das Autokorrelationssignal einen von null verschiedenen Wert annimmt, insbesondere eine signifikante Spitze aufweist, ist erreicht, dass die Foki des

Beobachtungsstrahlengangs 38 und des Beleuchtungsstrahlengangs 50 zusammenfallen.

Um sodann den Fokus des anderen Beobachtungsstrahlengangs 40 in
5 Deckung mit dem Fokus des Beobachtungsstrahlengangs 38 zu bringen,
ermittelt die Auswerte- und Steuereinheit 52 aus den Fluoreszenzdetek-
tionssignalen der beiden Detektoren 26, 36 ein Kreuzkorrelationssignal
erster oder/und höherer Ordnung. In Abhängigkeit von diesem Kreuzkorrela-
tionssignal, insbesondere wiederum abhängig von Amplitude und Halb-
10 wertszeit der Kreuzkorrelation, bewirkt sie dann eine Verstellung wenig-
stens eines Teils der verstellbaren optischen Komponenten des Beobach-
tungsstrahlengangs 40, bis das Kreuzkorrelationssignal einen von null
verschiedenen Wert annimmt, insbesondere eine signifikante Spitze auf-
weist. Sobald das Kreuzkorrelationssignal ein solches Verhalten zeigt, ist
15 erreicht, dass die Foki der Beobachtungsstrahlengänge 38, 40 zusammen-
fallen.

In einer bevorzugten praktischen Ausführungsform des Doppelmikroskops
der Fig. 1 sind die Objektlinse 18, 28 und die Lochblenden 20, 30 fest.
20 Dagegen sind die Linsen 22, 32 justierbar. Im Beleuchtungsstrahlengang 50
ist des Weiteren die Linse 48 justierbar.

Korrelationsfunktionen höherer Ordnung können zur weiteren Optimierung
des auf Rückkopplung basierenden Justieralgorithmus verwendet werden.
25 Beispielhaft stelle man sich vor, dass die zur Markierung der Analyten
verwendeten fluoreszierenden Moleküle Lichtimpulse verschiedener (mehr
als zwei) Emissionswellenlängen aussenden. Wenn die beiden Detektoren
26, 36 auf voneinander unterschiedliche Wellenlängen ansprechen, kann
die Koinzidenz zwischen den Foki der beiden Beobachtungsstrahlengänge
30 38, 40 über eine Mehrfarben-Korrelationsfunktion höherer Ordnung erfasst
werden.

- 10 -

Die Stellorgane 54 können beliebiger Ausgestaltung sein. Beispielsweise kann es sich bei ihnen um piezoelektrische Stellorgane oder um mechanische Mikro-Schraubtriebe handeln.

6 In den weiteren Figuren sind gleiche oder gleich wirkende Bestandteile mit gleichen Bezugszeichen wie in Fig. 1 versehen, jedoch ergänzt um einen Kleinbuchstaben. Um Wiederholungen zu vermeiden, wird zur Erläuterung dieser Bestandteile auf die vorangehenden Ausführungen zu Fig. 1 verwiesen. Nachfolgend soll lediglich auf Unterschiede zur Ausführungsform
10 der Fig. 1 eingegangen werden.

Bei dem Ausführungsbeispiel der Fig. 1 wurde die Messprobe lediglich von einer Seite mit Licht bestrahlt. Fig. 2 zeigt ein Ausführungsbeispiel, bei dem die Messprobe 12a von zwei gegenüberliegenden Seiten her mit Licht
15 bestrahlt wird. Hierzu ist eine weitere Beleuchtungsbaugruppe 56a vorgesehen, welche eine Laserquelle 58a, einen in dem Beobachtungsstrahlengang 40a angeordneten dichroitischen Spiegel 60a und ggf. weitere optische Elemente zur Beeinflussung des Laserstrahls der Laserquelle 58a aufweist. Diese weiteren optischen Elemente umfassen im vorliegenden
20 Beispielfall zumindest eine Vorfokussierungslinse 62a. Nach Ablenkung durch den Spiegel 60a trifft der Laserstrahl der Laserquelle 58a auf die Objektivlinse 28a. Von dort wird er auf das Messvolumen der Messprobe 12a fokussiert. Die Beleuchtungsbaugruppe 56a definiert zusammen mit der Objektivlinse 28a einen weiteren Beleuchtungsstrahlengang des Doppel-
25 pelmikroskops 10a, der von der Laserquelle 58a zu dem Messvolumen führt und in Fig. 2 mit 64a bezeichnet ist.

Der Fokus dieses Beleuchtungsstrahlengangs 64a soll optimalerweise so eingestellt werden, dass er exakt mit den Foki des Beleuchtungsstrahlengangs 50a und der Beobachtungsstrahlengänge 38a, 40a zusammenfällt.
30 Hierzu ist wenigstens eine ausschließlich den Beleuchtungsstrahlengang 64a fokal beeinflussende optische Komponente des Doppelmikroskops 10a

- 11 -

mittels eines Stellorgans 54a verstellbar. In Fig. 2 ist dies die Vorfokussierungslinse 62a. Es versteht sich, dass alternativ oder zusätzlich auch die Laserquelle 58a oder/und der Spiegel 60a mittels eines solchen Stellorgans 54a verstellbar sein können.

6

Die Reihenfolge, in der die einzelnen Strahlengänge 38a, 40a, 50a, 64a des Doppelmikroskops 10a fokal eingestellt werden, kann beispielsweise derart sein, dass zunächst – wie bei dem Ausführungsbeispiel der Fig. 1 – die Strahlengänge 38a, 40a und 50a relativ zueinander justiert werden und
10 sodann der Fokus des Beleuchtungsstrahlengangs 64a deckungsgleich mit dem Fokus des Beobachtungsstrahlengangs 40a gemacht wird, dies wiederum unter Heranziehung der Autokorrelation erster oder/und höherer Ordnung des Fluoreszenzdetektionssignals des Detektors 36a.

15 Die beiden Laserquellen 44a, 58a können Laserlicht unterschiedlicher Wellenlängen ausstrahlen. Es ist freilich nicht ausgeschlossen, dass die Laserquellen 44a, 58a Licht gleicher Wellenlänge ausstrahlen. Eine Abwandlung der Fig. 2 kann darin bestehen, eine der Laserquellen 44a, 58a wegzulassen und das Licht der verbleibenden Laserquelle aufzuteilen. Jeder
20 Teil des von dieser einzigen Laserquelle ausgesandten Laserstrahls wird dann in einen der Beleuchtungsstrahlengänge 50a, 64a eingespeist.

Bei dem Ausführungsbeispiel der Fig. 3 umfasst die Beobachtungsbau-
gruppe 14b nicht nur den Detektor 26b, sondern ferner einen zweiten
25 Detektor 66b, wobei das von den fluoreszierenden Molekülen der Messprobe 12b ausgesandte Licht mittels eines in dem Beobachtungsstrahlengang 38b nach der Lochblende 20b und nach der Linse 22b angeordneten dichroitischen Spiegels 68b teilweise zu dem Detektor 66b umgelenkt wird. Es wird so ein weiterer Beobachtungsstrahlengang definiert, der in Fig. 3
30 mit 70b bezeichnet ist und von der Messprobe 12b bis zu dem Spiegel 68b und von dort zum Detektor 66b verläuft. In dem Teil des Beobachtungsstrahlengangs 70b, der getrennt von dem Beobachtungsstrahlengang 38b

- 12 -

verläuft, können weitere optische Elemente angeordnet sein, so z.B. ein Filter 72b. Vorzugsweise detektieren die Detektoren 26b, 66b Licht unterschiedlicher Wellenlängen.

5 Zur fokalen Justierung des Mikroskops 10b können beispielsweise zunächst – wie bei dem Ausführungsbeispiel der Fig. 1 – einer der Beobachtungsstrahlengänge 38b, 70b und der Beleuchtungsstrahlengang 50b aufeinander abgestimmt werden. Sodann kann der andere Beobachtungsstrahlengang mittels Autokorrelation fokal auf den Beleuchtungsstrahlengang 50b oder/und mittels Kreuzkorrelation fokal auf den einen Beobachtungsstrahlengang abgestimmt werden. Zur voneinander unabhängigen Fokaleinstellung der beiden Beobachtungsstrahlengänge 38b, 70b können in Fig. 3 die beiden Detektoren 26b, 66b jeweils mittels eines Stellorgans 54b verstellbar sein. Es kann in einer bevorzugten Ausführungsform auch
10 nur einer der beiden Detektoren 26b, 66b verstellbar sein, während der andere fest ist. Von den Komponenten 18b, 20b, 22b ist – wenngleich in Fig. 3 ein Stellorgan 54b zu jeder dieser Komponenten eingezeichnet ist – vorzugsweise nur die Linse 22b verstellbar, während die Objektivlinse 18b und die Lochblende 20b vorzugsweise fest sind.

20 Bei dem Ausführungsbeispiel der Fig. 4 umfasst die Beobachtungsbaugruppe 14c sogar drei vorzugsweise auf unterschiedliche Wellenlängen ansprechende Detektoren, nämlich neben den Detektoren 26c, 66c noch einen dritten Detektor 74c. Dieser detektiert Licht, das mittels eines weiteren, in dem Beobachtungsstrahlengang 38c angeordneten dichroitischen
25 Spiegels 76c aus dem von der Messprobe 12c emittierten Licht herausgeteilt wird. Es wird so ein Beobachtungsstrahlengang 78c definiert, der von der Messprobe 12b bis zu dem Spiegel 76c und von dort zum Detektor 74c verläuft. In dem Teil des Beobachtungsstrahlengangs 78c, der getrennt von den Beobachtungsstrahlengängen 38c, 70c verläuft, können wiederum
30 weitere optische Elemente angeordnet sein, so z.B. ein Filter 80c.

- 13 -

Ähnlich wie bei dem Ausführungsbeispiel der Fig. 3, können zur fokalen Justierung des Mikroskops 10c der Fig. 4 beispielsweise zunächst die Foki eines der Beobachtungsstrahlengänge 38c, 70c, 78c und des Beleuchtungsstrahlengangs 50c in Deckung gebracht werden. Sodann können die
5 beiden anderen Beobachtungsstrahlengänge jeweils mittels Autokorrelation fokal auf den Beleuchtungsstrahlengang 50c oder/und mittels Kreuzkorrelation fokal auf den einen Beobachtungsstrahlengang abgestimmt werden. Zur voneinander unabhängigen Fokaleinstellung der drei Beobachtungsstrahlengänge 38c, 70c, 78c ist in Fig. 4 allen Detektoren 26c, 66c, 74c
10 jeweils ein Stellorgan 54b zugeordnet. Vorzugsweise sind jedoch nur zwei der Detektoren und die Linse 22c verstellbar.

Wenngleich die Mikroskopianordnungen der Fig. 3 und 4 jeweils nur als Einfachmikroskop dargestellt sind, bei dem die Messprobe nur von einer
15 Seite beobachtet wird, können sie selbstverständlich auch als Doppelmikroskop ausgebildet sein, bei dem – wie in den Fig. 1 und 2 – auch auf der gegenüberliegenden Seite der Messprobe Beobachtungs- und gewünschtenfalls auch Beleuchtungsmittel vorgesehen sind. Dies ist in den Fig. 3 und 4 jeweils gestrichelt unterhalb der Messprobe angedeutet. Insbesondere
20 kann dabei eine spiegelbildliche Ausgestaltung des Mikroskops gewählt werden. Des Weiteren versteht es sich, dass im Rahmen der Erfindung grundsätzlich auch Mehrfach-Mikroskopianordnungen denkbar sind, bei denen von mehr als zwei Seiten eine Beobachtung der Messprobe stattfindet.

Ansprüche

1. Mikroskopanordnung zur Fluoreszenzspektroskopie, insbesondere Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie, mit mindestens zwei Strahlengängen (38, 40, 50), welche jeweils auf ein in einem gemeinsamen Messbereich der Mikroskopanordnung liegendes Messvolumen einer zu untersuchenden Messprobe (12) fokussierbar sind, wobei mindestens einer (50) der Strahlengänge (38, 40, 50) ein Beleuchtungsstrahlengang ist, welcher von einer Lichtquelle (44) zu dem Messbereich führt, wobei mindestens ein weiterer (38, 40) der Strahlengänge (38, 40, 50) ein Beobachtungsstrahlengang ist, welcher von dem Messbereich zu einem ein Fluoreszenzdetektionssignal bereitstellenden Photodetektor (26, 36) führt, und wobei die Mikroskopanordnung mindestens ein in einem der Strahlengänge (38, 40, 50) angeordnetes optisches Element (18, 20, 22, 28, 30, 48) aufweist, welches zur Fokaleinstellung dieses Strahlengangs (38, 40, 50) verstellbar ist, gekennzeichnet durch eine auf das Fluoreszenzdetektionssignal ansprechende und mit dem optischen Element (18, 20, 22, 28, 30, 48) in Stellverbindung stehende elektronische Stell-Steuereinrichtung (52), welche dazu ausgebildet ist, zur Fokaleinstellung des betreffenden Strahlengangs (38, 40, 50) eine von dem Fluoreszenzdetektionssignal abhängige Verstellung des optischen Elements (18, 20, 22, 28, 30, 48) zu bewirken.
2. Mikroskopanordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Stell-Steuereinrichtung (52) dazu ausgebildet ist, zur Fokaleinstellung des betreffenden Strahlengangs (38, 40, 50) eine Verstellung des optischen Elements (18, 20, 22, 28, 30, 48) in Abhängigkeit eines von dem Fluoreszenzdetektionssignal abgeleiteten Korrelationssignals zu bewirken.

- 15 -

3. Mikroskopanordnung nach Anspruch 2;

dadurch gekennzeichnet, dass zur Fokaleinstellung eines Beleuchtungsstrahlengangs (50) und eines Beobachtungsstrahlengangs (38) relativ zueinander die Stell-Steuereinrichtung (52) dazu ausgebildet ist, eine Verstellung mindestens eines vorzugsweise ausschließlich in dem Beleuchtungsstrahlengang (50) angeordneten optischen Elements (48) oder/und eine Verstellung mindestens eines vorzugsweise ausschließlich in dem Beobachtungsstrahlengang (38) angeordneten optischen Elements (20, 22) in Abhängigkeit eines Autokorrelationssignals zu bewirken, welches durch Autokorrelation des Fluoreszenzdetektionssignals des in dem Beobachtungsstrahlengang (38) angeordneten Photodetektors (26) hergeleitet ist.

4. Mikroskopanordnung nach Anspruch 2 oder 3,

dadurch gekennzeichnet, dass zur Fokaleinstellung eines ersten und eines zweiten Beobachtungsstrahlengangs (38, 40) relativ zueinander die Stell-Steuereinrichtung (52) dazu ausgebildet ist, eine Verstellung mindestens eines vorzugsweise ausschließlich in dem ersten Beobachtungsstrahlengang (38) angeordneten optischen Elements (18, 20, 22) oder/und eine Verstellung mindestens eines vorzugsweise ausschließlich in dem zweiten Beobachtungsstrahlengang (40) angeordneten optischen Elements (28, 30, 32) in Abhängigkeit eines Kreuzkorrelationssignals zu bewirken, welches durch Kreuzkorrelation der Fluoreszenzdetektionssignale der in den beiden Beobachtungsstrahlengängen (38, 40) angeordneten Photodetektoren (26, 36) hergeleitet ist.

Fig. 1

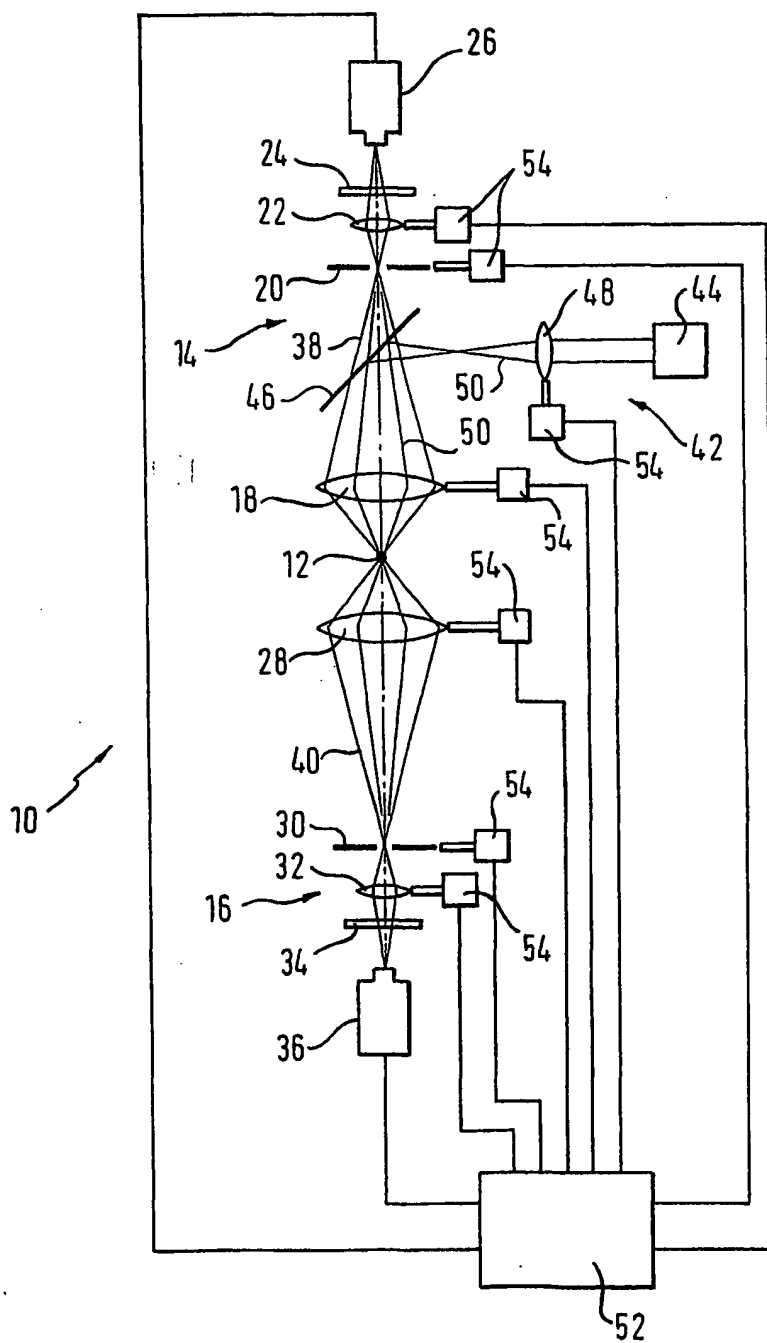


Fig. 2

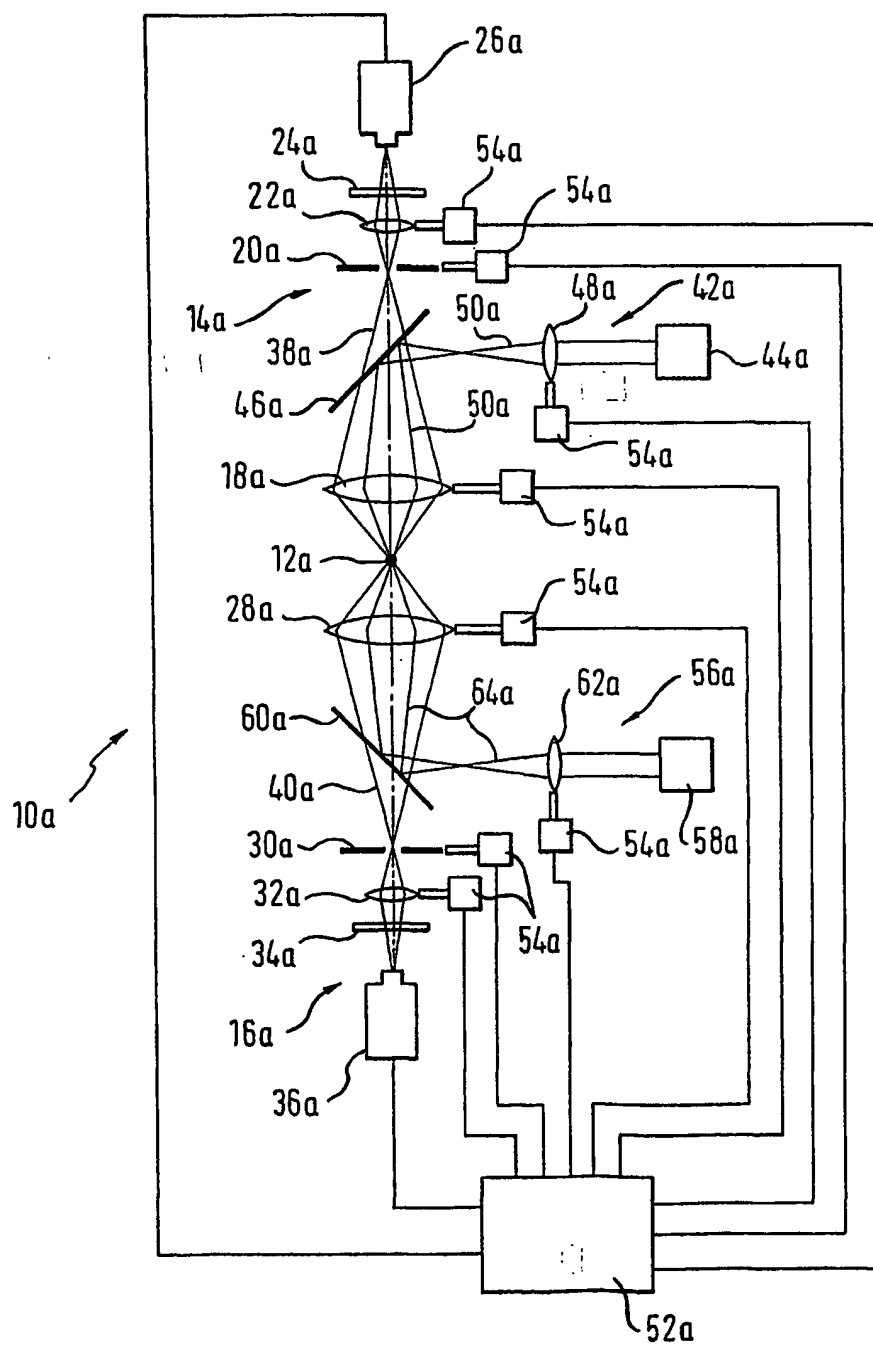


Fig. 3

3 / 3

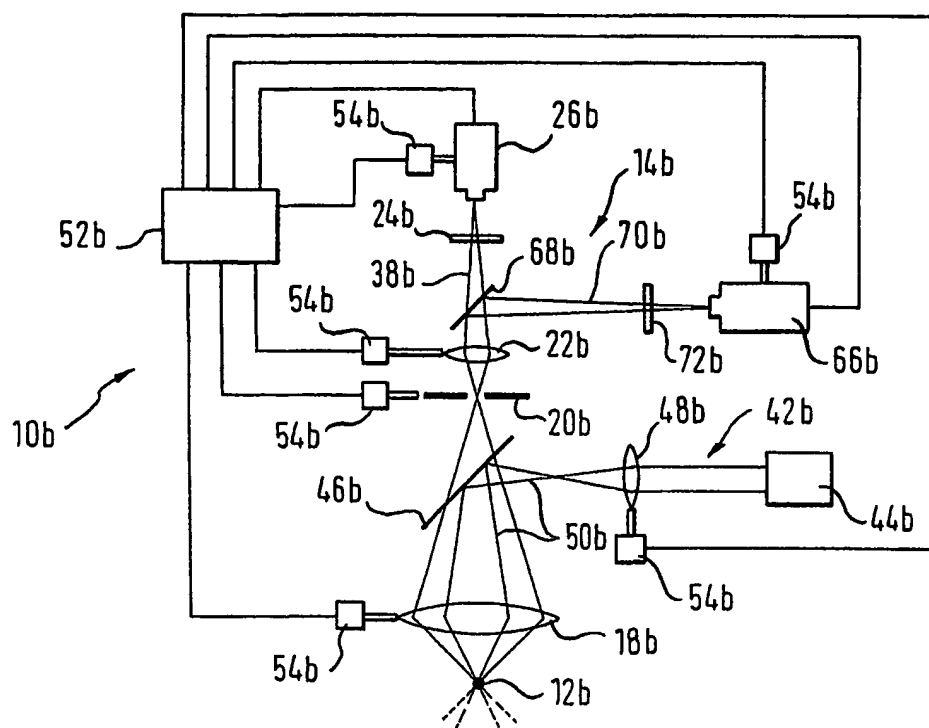
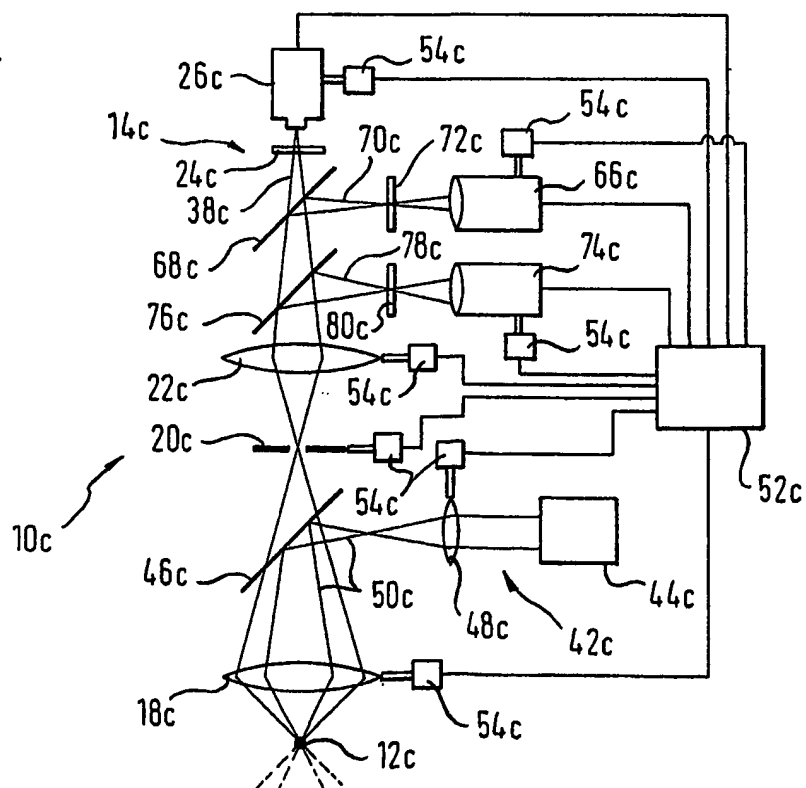


Fig. 4



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/03453

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G02B21/00 G02B21/24 G01J3/44 G01J3/02 G01N21/64		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 G01J G01N B02B G02B		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, INSPEC, COMPENDEX		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	VOLCKER M ET AL: "MIKROSKOPGESTUTZTE FLUORESZENZ-PHOTONEN-KORRELATION" TECHNISCHES MESSEN TM, R.OLDENBOURG VERLAG. MUNCHEN, DE, vol. 63, no. 4, 1 Apr 11 1996 (1996-04-01), pages 128-135, XP000584186 ISSN: 0171-8096 page 133, last paragraph	1-4
X	WO 96 37797 A (GEN SCANNING INC ;MONTAGU JEAN I (US)) 28 November 1996 (1996-11-28) figure 4 page 15, line 23 - line 30 page 16, line 21 -page 18, line 24 -/-	1-4
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the International filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the International search 29 July 2002		Date of mailing of the International search report 12/08/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Röd1g, C

BEST AVAILABLE COPY

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/03453

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 196 49 605 A (DEUTSCHES KREBSFORSCH) 4 June 1998 (1998-06-04) column 5, line 8 - line 14 column 6, line 35 - line 42; claim 4 ----	1
A	SCHWILLE P ET AL: "DUAL-COLOR FLUORESCENCE CROSS-CORRELATION SPECTROSCOPY FOR MULTICOMPONENT DIFFUSIONAL ANALYSIS IN SOLUTION" BIOPHYSICAL JOURNAL, NEW YORK, US, US, vol. 72, no. 4, 1 April 1997 (1997-04-01), pages 1878-1886, XP002059917 ISSN: 0006-3495 page 1882, column 2 -page 1883, column 3 ----	1
A	M. EIGEN, R. RIGLER: "Sorting single molecules: Application to diagnostics and evolutionary biotechnology" PROC. NATL. ACAD. SCI. USA, vol. 91, 1994, pages 5740-5747, XP002207751 cited in the application the whole document -----	1-4

BEST AVAILABLE COPY

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 02/03453

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9637797	A	28-11-1996	AU 5934296 A WO 9637797 A1	11-12-1996 28-11-1996
DE 19649605	A	04-06-1998	DE 19649605 A1 AT 207614 T WO 9823944 A1 DE 59705110 D1 EP 0941470 A1 ES 2162336 T3 JP 2001505997 T	04-06-1998 15-11-2001 04-06-1998 29-11-2001 15-09-1999 16-12-2001 08-05-2001

BEST AVAILABLE COPY

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktonzeichen
PCT/EP 02/03453

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES		
IPK 7	G02B21/00	G02B21/24
	G01J3/44	G01J3/02
		G01N21/64
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)		
IPK 7 G01J G01N B02B G02B		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
EPO-Internal, INSPEC, COMPENDEX		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
X	VOLCKER M ET AL: "MIKROSKOPGESTUTZTE FLUORESCENZ-PHOTONEN-KORRELATION" TECHNISCHES MESSEN TM, R.OLDENBOURG VERLAG. MÜNCHEN, DE, Bd. 63, Nr. 4, 1. April 1996 (1996-04-01), Seiten 128-135, XP000584186 ISSN: 0171-8096 Seite 133, letzter Absatz	1-4
X	WO 96 37797 A (GEN SCANNING INC ;MONTAGU JEAN I (US)) 28. November 1996 (1996-11-28) Abbildung 4 Seite 15, Zeile 23 - Zeile 30 Seite 16, Zeile 21 -Seite 18, Zeile 24	1-4
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
29. Juli 2002		12/08/2002
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Rödig, C

BEST AVAILABLE COPY

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/03453

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 196 49 605 A (DEUTSCHES KREBSFORSCH) 4. Juni 1998 (1998-06-04) Spalte 5, Zeile 8 - Zeile 14 Spalte 6, Zeile 35 - Zeile 42; Anspruch 4 -----	1
A	SCHWILLE P ET AL: "DUAL-COLOR FLUORESCENCE CROSS-CORRELATION SPECTROSCOPY FOR MULTICOMPONENT DIFFUSIONAL ANALYSIS IN SOLUTION" BIOPHYSICAL JOURNAL, NEW YORK, US, US, Bd. 72, Nr. 4, 1. April 1997 (1997-04-01), Seiten 1878-1886, XP002059917 ISSN: 0006-3495 Seite 1882, Spalte 2 -Seite 1883, Spalte 3 -----	1
A	M. EIGEN, R. RIGLER: "Sorting single molecules: Application to diagnostics and evolutionary biotechnology" PROC. NATL. ACAD. SCI. USA, Bd. 91, 1994, Seiten 5740-5747, XP002207751 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	1-4

BEST AVAILABLE COPY

INTERNATIONALES RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Abkürzungszeichen

PCT/EP 02/03453

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9637797 A	28-11-1996	AU 5934296 A WO 9637797 A1	11-12-1996 28-11-1996
DE 19649605 A	04-06-1998	DE 19649605 A1 AT 207614 T WO 9823944 A1 DE 59705110 D1 EP 0941470 A1 ES 2162336 T3 JP 2001505997 T	04-06-1998 15-11-2001 04-06-1998 29-11-2001 15-09-1999 16-12-2001 08-05-2001

BEST AVAILABLE COPY